

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
10. Mai 2001 (10.05.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/32751 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: C08J 3/14, (72) Erfinder; und
C08L 5/08, A61K 7/00, 9/16, 47/36 (75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): KROPF, Christian
[DE/DE]; Cäcilienstrasse 4, 40597 Düsseldorf (DE).
REIL, Stephan [DE/DE]; Bahlenstr. 88, 40589 Düsseldorf (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/10330
- (22) Internationales Anmeldedatum: 20. Oktober 2000 (20.10.2000) (81) Bestimmungsstaaten (*national*): JP, US.
- (25) Einreichungssprache: Deutsch (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 199 52 073.9 29. Oktober 1999 (29.10.1999) DE
Veröffentlicht:
— Mit internationalem Recherchenbericht.
- (71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): COGNIS DEUTSCHLAND GMBH [DE/DE]; Henkelstr. 67, 40589 Düsseldorf (DE).
Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING NANOPARTICULATE CHITOSANS OR CHITOSAN DERIVATIVES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON NANOPARTIKULÄREN CHITOSANEN ODER CHITOSAN-DERIVATEN

(57) Abstract: The invention relates to a method for producing nanoparticulate chitosans or chitosan derivatives with particle diameters in the range of from 10 to 1000 nm. According to the inventive method, (a) the chitosan or chitosan derivative is dissolved in an acidic aqueous medium and (b) the pH of the solution is raised in the presence of a surface modifier to such an extent that the chitosan is precipitated. The invention allows for the production of non-agglomerating nanoparticles in dispersed or dry form in a simple manner and independent of organic solvents.

(57) Zusammenfassung: Vorgeschlagen wird ein Verfahren zur Herstellung von nanopartikulären Chitosanen oder Chitosanderivaten mit Teilchendurchmessern im Bereich von 10 bis 1000 nm, bei dem man (a) das Chitosan oder Chitosan-Derivat in einem sauren wässrigen Medium löst; (b) den pH-Wert der Lösung in Gegenwart eines Oberflächenmodifikationsmittels soweit anhebt, dass es zur Ausfällung des Chitosans kommt. Das Verfahren ermöglicht eine einfache, von organischen Lösungsmitteln unabhängige Herstellung agglomerationsstabiler Nanopartikel in dispergierter oder trockener Form.

WO 01/32751 A1

Verfahren zur Herstellung von nanopartikulären Chitosanen oder Chitosan-Derivaten

Die Erfindung befindet sich auf dem Gebiet der Nanopartikel und betrifft die Herstellung von Chitosanen oder Chitosan-Derivaten in nanopartikulärer Form.

Im Gegensatz zu den meisten Hydrokolloiden, die im Bereich biologischer pH-Werte negativ geladen sind, stellt Chitosan ein unter diesen Bedingungen kationisches Biopolymer dar. Das positiv geladene Chitosan kann mit entgegengesetzt geladenen Oberflächen in Wechselwirkung treten und wird daher beispielsweise in kosmetischen Haar- und Körperpflegemitteln sowie pharmazeutischen Zubereitungen eingesetzt (vgl. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 5th Ed., Vol. A6, Weinheim, Verlag Chemie, 1986, S. 231-332), wo es als Feuchtigkeitsspender und Filmbildner Anwendung findet. Das entsprechende gilt für Derivate des Chitosans, in welchen der basische Charakter des Moleküls erhalten bleibt. Hierzu zählen beispielsweise Alkoxylierungsprodukte des Chitosans wie Ethoxylate und Propoxylate.

Die Eigenschaften und Anwendungsmöglichkeiten von Chitosanen und Chitosan-Derivaten hängen erheblich davon ab, in welcher Form diese Stoffe vorliegen, insbesondere in welcher Partikelgröße und in welcher Konsistenz. Ein typisches Merkmal von Chitosan ist seine Schwerlöslichkeit im neutralen und alkalischen pH-Bereich sowie generell in nichtwässrigen Medien. Weiterhin charakteristisch ist seine ausgeprägte Neigung zur Gelbildung selbst bei niedrigen Konzentrationen, was die Handhabung des Chitosans und seine Anwendung insbesondere in der Kosmetik in vielen Fällen problematisch macht. Weiter ist Chitosan mit anderen Komponenten beispielsweise in kosmetischen Rezepturen nur begrenzt verträglich. Es besteht somit ein Bedarf nach Chitosanen, welche in gut handhabbarer und dosierbarer Form vorliegen, lagerstabil sind und besser als herkömmliche Produktqualitäten verarbeitbar und in Formulierungen einsetzbar sind.

Aus der Literatur sind unterschiedliche Versuche bekannt, die Eigenschaften von Chitosan über seine Partikelgröße zu beeinflussen und kleine Chitosanpartikel für bestimmte Zwecke zu nutzen. So eignen sich die in der DE 19712978 beschriebenen mit einem Ölkörper beladenen Chitosan-Mikrosphären als Wirkstoffdepots, welche den Wirkstoff in zeitverzögerter und kontrollierter Weise freisetzen. Die dort beschriebenen Mikrosphären stellen Perlen mit einem Durchmesser von 0,01 bis 6 mm dar. In der WO 0047177 wurde offenbart dass sich die Resorption von Chitosanen bzw. Chitosanderivaten sowohl durch das Stratum Comeum der Haut als auch die Keratinfibrillen des Haares signifikant steigern läßt, wenn diese in Form von Nanoteilchen, d.h. Partikeln mit einem mittleren Durchmesser im Bereich von 10 bis 300 und vorzugsweise 50 bis 150 nm vorliegen.

Aus der JP-A 09221502 sind Chitosan-Nanosphären bekannt, welche durch Emulgierung wäßriger Chitosan-Lösungen in organischen Lösungsmitteln in Gegenwart von quartären Ammoniumsalzen hergestellt werden. Die WO-A 9801162 sowie die WO-A 9801160 beschreiben Chitosan-Nanosphären, welche aus Komplexen von Chitosan mit Nukleinsäuren bestehen und durch Koazervationstechniken hergestellt werden.

Nachteilig an den aus dem Stand der Technik bekannten Herstellverfahren, welche sich eines organischen Lösungsmittels bedienen, ist die häufig schwierige Isolierbarkeit der Nanopartikel. Außerdem ist es häufig nicht möglich, die Nanopartikel vollständig vom organischen Lösungsmittel zu befreien, was insbesondere kosmetische und pharmazeutische Anwendungsmöglichkeiten stark einschränkt.

Ein weiterer Nachteil von Herstellverfahren des Stands der Technik besteht darin, daß bei der Herstellung als Beiprodukte entstehende Salze oft nur schwer entfernbar sind.

Für eine breitere Anwendung beispielsweise in der Kosmetik und Pharmazie besteht ein Bedarf nach Chitosanpartikeln, deren Größe im Nanometer-Bereich liegt, deren Herstellung ohne organische Lösungsmittel möglich ist und die nicht herstellungsbedingt zwangsläufig mit einem bestimmten Wirkstoff, wie Nukleinsäuren im Falle der beiden vorstehend genannten WO-Schriften oder Ölkörpern im Falle der DE 19712978, oder einem bestimmten Tensid vorbeladen sind. Weiterhin sollte ein Herstellverfahren für derartige Partikel technisch einfach und kostengünstig sein und in herkömmlichen und weit verbreiteten technischen Anlagen durchführbar sein.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß sich die vorstehend beschriebene Aufgabenstellung durch ein Herstellverfahren lösen läßt, bei dem man eine wäßrige Lösung von Chitosanen oder Chitosanderivaten in Gegenwart von Oberflächenmodifikationsmitteln ausfällt.

Gegenstand der Erfindung sind somit Verfahren zur Herstellung von nanopartikulären Chitosanen oder Chitosanderivaten mit einem mittleren Teilchendurchmesser im Bereich von 10 bis 1000 nm, vorzugsweise von 50 bis 200 nm, bei welchen man

- (a) das Chitosan oder Chitosan-Derivat in einem sauren wässrigen Medium löst
- (b) den pH-Wert der Lösung in Gegenwart eines Oberflächenmodifikationsmittels soweit anhebt, daß es zur Ausfällung des Chitosans kommt.

Bevorzugt wird das Verfahren in Abwesenheit organischer Lösungsmittel ausgeführt. Nicht unter den Begriff organische Lösungsmittel fallen dabei ausdrücklich die im Verfahren verwendeten O-

berflächenmodifikationsmittel sowie gegebenenfalls in Schritt (a) des Verfahrens zur Auflösung des Chitosans oder Chitosan-Derivats verwendete organische Säuren.

Chitosane stellen Biopolymere dar und werden zur Gruppe der Hydrokolloide gezählt. Chemisch betrachtet, handelt es sich um partiell deacetylierte Chitine unterschiedlichen Molekulargewichtes. Zur Herstellung der Chitosane geht man von Chitin, vorzugsweise den Schalenresten von Krustentieren aus, die als billige Rohstoffe in großen Mengen zur Verfügung stehen. Das Chitin wird dabei üblicherweise zunächst durch Zusatz von Basen deproteiniert, durch Zugabe von Mineralsäuren demineralisiert und schließlich durch Zugabe von starken Basen deacetyliert, wobei die Molekulargewichte über ein breites Spektrum verteilt sein können. Entsprechende Verfahren sind beispielsweise aus Makromol. Chem. 177, 3589 (1976) oder der französischen Patentanmeldung FR 2701266 A1 bekannt. Vorzugsweise werden solche Typen eingesetzt, wie sie in den deutschen Patentanmeldungen DE 4442987 A1 und DE 19537001 A1 (Henkel) offenbart werden, und die ein durchschnittliches Molekulargewicht von 800.000 bis 1.200.000 Dalton, eine Viskosität nach Brookfield (1 Gew.-%ig in Glykolsäure) unterhalb von 5000 mPas, einen Deacetylierungsgrad im Bereich von 80 bis 88 % und einem Aschegehalt von weniger als 0,3 Gew.-% aufweisen. Unter Chitosan-Derivaten im Sinne der vorliegenden Erfindung sind solche Derivate zu verstehen, welche bei sauren pH-Werten wasserlöslich, im Neutralbereich sowie bei alkalischen pH-Werten jedoch schwerlöslich in Wasser sind, d. h. die ein analoges Löslichkeitsverhalten wie die Chitosane selbst aufweisen. Solche Chitosan-Derivate sind beispielsweise Alkoxylierungsprodukte von Chitosanen mit Ethylenoxid, Propylenoxid oder Gemischen aus beiden sowie Derivate, welche basische Aminogruppen enthalten.

Im ersten Schritt des erfindungsgemäßen Verfahrens wird ein Chitosan oder Chitosan-Derivat unter Hinzufügung einer Säure in Wasser als Lösungsmittel gelöst. Die Auflösung des Chitosans oder Chitosan-Derivats erfolgt durch Salzbildung mit einer Mineralsäure oder einer organischen Säure, beispielsweise mit Salzsäure, Schwefelsäure, Methansulfonsäure, Glykolsäure, Milchsäure, Salicylsäure, Adipinsäure oder Ascorbinsäure. Erfindungsgemäß bevorzugt sind Salzsäure, Glykolsäure und Milchsäure. Die Reihenfolge der Zusammenfügung der einzelnen Komponenten ist bei der Herstellung der Lösung unkritisch. Vorzugsweise werden das Chitosan oder Chitosan-Derivat in Wasser vorgelegt und unter Rühren mit einer solchen Menge an Säure versetzt, wie zur Bildung einer Lösung erforderlich ist. Bevorzugt erfolgt die Auflösung des Chitosans oder Chitosan-Derivats bei pH-Werten zwischen 1 und 5. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird das Chitosan oder Chitosanderivat in eine wäßrige Säure eingetragen.

Im zweiten Schritt des Verfahrens wird der pH-Wert der wäßrigen Lösung des Chitosans oder Chitosanderivats mittels eines Alkalisierungsmittels in Gegenwart eines Oberflächenmodifikationsmittels so weit angehoben, daß es zur Ausfällung des nanopartikulären Chitosans oder Chitosanderivats kommt. Als Alkalisierungsmittel werden vorzugsweise wäßrige Lösungen von Hydroxiden der Alkali- oder Erdalkalimetalle oder Ammoniak verwendet. Vorzugsweise wird die Ausfällung unter mechanischer Durchmischung, beispielsweise mittels eines Rührers, durchgeführt. Bei der Ausfällung wird entweder die saure Lösung des Chitosans oder Chitosanderivats vorgelegt und das Alkalisierungsmittel zugegeben, oder es wird umgekehrt verfahren. Erfindungswesentlich ist, daß die Ausfällung der sauren Lösung des Chitosans oder Chitosanderivats in Gegenwart eines Oberflächenmodifikationsmittels erfolgt. Dabei kann sich das Oberflächenmodifikationsmittel entweder in der sauren Lösung oder dem Alkalisierungsmittel befinden. In einer weiteren Ausführungsvariante des erfindungsgemäßen Herstellverfahrens können die saure Lösung des Chitosans oder Chitosanderivats, das Alkalisierungsmittel und das Oberflächenmodifikationsmittel, bevorzugt in Form wäßriger Lösungen, auch gleichzeitig miteinander vereinigt werden.

Unter Oberflächenmodifikationsmitteln sind Stoffe zu verstehen, welche an der Oberfläche der feinteiligen Partikel physikalisch anhaften, mit diesen jedoch nicht oder nur in geringem Ausmaß chemisch reagieren. Die einzelnen an der Oberfläche adsorbierten Moleküle der Oberflächenmodifikationsmittel sind im wesentlichen frei von intermolekularen Bindungen untereinander. Unter Oberflächenmodifikationsmitteln sind insbesondere Dispergiemittel zu verstehen. Dispergiemittel sind dem Fachmann beispielsweise auch unter den Begriffen Emulgatoren, Schutzkolloide, Netzmittel, Detergentien etc. bekannt.

Als Oberflächenmodifikationsmittel kommen beispielsweise Emulgatoren vom Typ der nichtionogenen Tenside aus mindestens einer der folgenden Gruppen in Frage:

- Anlagerungsprodukte von 2 bis 60 Mol Ethylenoxid und/ oder 0 bis 5 Mol Propylenoxid an lineare Fettalkohole mit 8 bis 22 C-Atomen, an Fettsäuren mit 12 bis 22 C-Atomen und an Alkylphenole mit 8 bis 15 C-Atomen in der Alkylgruppe;
- C_{12/18}-Fettsäuremono- und -diester von Anlagerungsprodukten von 1 bis 30 Mol Ethylenoxid an Glycerin;
- Glycerinmono- und -diester und Sorbitanmono- und -diester von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren mit 6 bis 22 Kohlenstoffatomen und deren Ethylenoxidanlagerungsprodukte;
- Alkylmono- und -oligoglycoside mit 8 bis 22 Kohlenstoffatomen im Alkylrest und deren ethoxylierte und/oder propoxylierte Analoga;
- Anlagerungsprodukte von 15 bis 60 Mol Ethylenoxid an Ricinusöl und/oder gehärtetes Ricinusöl;
- Polyol- und insbesondere Polyglycerinester, wie z.B. Polyglycerinpolyricinoleat, Polyglycerinpoly-12-hydroxystearat oder Polyglycerinindimerat. Ebenfalls geeignet sind Gemische von Verbindungen aus mehreren dieser Substanzklassen;
- Anlagerungsprodukte von 2 bis 15 Mol Ethylenoxid an Ricinusöl und/oder gehärtetes Ricinusöl;
- Partialester auf Basis linearer, verzweigter, ungesättigter bzw. gesättigter C_{6/22}-Fettsäuren, Ricinolsäure sowie 12-Hydroxystearinsäure und Glycerin, Polyglycerin, Pentaerythrit, Dipentaerythrit, Zuckeralkohole (z.B. Sorbit), Alkylglucoside (z.B. Methylglucosid, Butylglucosid, Laurylglucosid) sowie Polyglucoside (z.B. Cellulose);
- Mono-, Di- und Trialkylphosphate sowie Mono-, Di- und/oder Tri-PEG-alkylphosphate und deren Salze;
- Wollwachsalkohole;
- Polysiloxan-Polyalkyl-Polyether-Copolymere bzw. entsprechende Derivate;
- Mischester aus Pentaerythrit, Fettsäuren, Citronensäure und Fettalkohol und/oder Mischester von Fettsäuren mit 6 bis 22 Kohlenstoffatomen, Methylglucose und Polyolen, vorzugsweise Glycerin oder Polyglycerin sowie
- Polyalkylenglycole.

Die Anlagerungsprodukte von Ethylenoxid und/oder von Propylenoxid an Fettalkohole, Fettsäuren, Alkylphenole, Glycerinmono- und -diester sowie Sorbitanmono- und -diester von Fettsäuren oder an Ricinusöl stellen bekannte, im Handel erhältliche Produkte dar. Es handelt sich dabei um Homologengemische, deren mittlerer Alkoxylierungsgrad dem Verhältnis der Stoffmengen von Ethylenoxid und/oder Propylenoxid und Substrat, mit denen die Anlagerungsreaktion durchgeführt wird, entspricht.

C_{8/18}-Alkylmono- und -oligoglycoside, ihre Herstellung und ihre Verwendung sind aus dem Stand der Technik bekannt. Ihre Herstellung erfolgt insbesondere durch Umsetzung von Glucose oder Oligosacchariden mit primären Alkoholen mit 8 bis 18 C-Atomen. Bezüglich des Glycosidrestes gilt, daß sowohl Monoglycoside, bei denen ein cyclischer Zuckerrest glycosidisch an den Fettalkohol gebunden ist, als auch oligomere Glycoside mit einem Oligomerisationsgrad bis vorzugsweise etwa 8 geeignet sind. Der Oligomerisierungsgrad ist dabei ein statistischer Mittelwert, dem eine für solche technischen Produkte übliche Homologenverteilung zugrunde liegt.

Typische Beispiele für anionische Emulgatoren sind Seifen, Alkylbenzolsulfonate, Alkansulfonate, Olefinsulfonate, Alkylethersulfonate, Glycerinethersulfonate, α -Methylestersulfonate, Sulfosäuren, Alkylsulfate, Alkylethersulfate wie beispielsweise Fettalkoholethersulfate, Glycerinethersulfate, Hydroxymischethersulfate, Monoglycerid(ether)sulfate, Fettsäureamid(ether)sulfate, Mono- und Dialkyl-sulfosuccinate, Mono- und Dialkylsulfo-succinamate, Sulfotriglyceride, Amidseifen, Ethercarbonsäuren und deren Salze, Fettsäureisethionate, Fettsäuresarcosinate, Fettsäuretauride, N-Acylaminosäuren wie beispielsweise Acylglutamate und Acylaspartate, Alkyloligoglycosidsulfate, Proteinfettsäurekondensate (insbesondere pflanzliche Produkte auf Weizenbasis), und Alkyl(ether)phosphate. Sofern die anionischen Tenside Polyglycoetherketten enthalten, können diese eine konventionelle, vorzugsweise jedoch eine eingeeengte Homologenverteilung aufweisen.

Weiterhin können als Emulgatoren zwitterionische Tenside verwendet werden. Als zwitterionische Tenside werden solche oberflächenaktiven Verbindungen bezeichnet, die im Molekül mindestens eine quartäre Ammoniumgruppe und mindestens eine Carboxylat- und eine Sulfonatgruppe tragen. Besonders geeignete zwitterionische Tenside sind die sogenannten Betaine wie die N-Alkyl-N,N-dimethylammoniumglycinate, beispielsweise das Kokosalkyldimethylammoniumglycinat, N-Acylamino-propyl-N,N-dimethylammonium-glycinate, beispielsweise das Kokosacylaminopropyl-dimethylammonium-glycinat, und 2-Alkyl-3-carboxymethyl-3-hydroxyethylimidazoline mit jeweils 8 bis 18 C-Atomen in der Alkyl- oder Acylgruppe sowie das Kokosacylaminoethylhydroxyethyl-carboxymethylglycinat. Besonders bevorzugt ist das unter der CTFA-Bezeichnung Cocamidopropyl Betaine bekannte Fettsäureamid-Derivat. Ebenfalls geeignete Emulgatoren sind ampholytische Tenside. Unter ampholytischen Tensiden werden solche oberflächenaktiven Verbindungen ver-

standen, die außer einer $C_{8/18}$ -Alkyl- oder -Acylgruppe im Molekül mindestens eine freie Aminogruppe und mindestens eine -COOH- oder -SO₃H-Gruppe enthalten und zur Ausbildung innerer Salze befähigt sind. Beispiele für geeignete ampholytische Tenside sind N-Alkylglycine, N-Alkylpropionsäuren, N-Alkylaminobuttersäuren, N-Alkyliminodipropionsäuren, N-Hydroxyethyl-N-alkylamidopropylglycine, N-Alkyltaurine, N-Alkylsarcosine, 2-Alkylaminopropionsäuren und Alkylaminoessigsäuren mit jeweils etwa 8 bis 18 C-Atomen in der Alkylgruppe. Besonders bevorzugte ampholytische Tenside sind das N-Kokosalkylaminopropionat, das Kokosacylaminoethylaminopropionat und das $C_{12/18}$ -Acylsarcosin. Neben den ampholytischen kommen auch quartäre Emulgatoren in Betracht, wobei solche vom Typ der Esterquats, vorzugsweise methylquaternierte Difettsäuretriethanolaminester-Salze, besonders bevorzugt sind.

Als Oberflächenmodifikationsmittel geeignete Schutzkolloide sind z.B. natürliche wasserlösliche Polymere wie z. B. Gummi arabicum, Stärke, wasserlösliche Derivate von wasserunlöslichen polymeren Naturstoffen wie z. B. Celluloseether wie Methylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Carboxymethylcellulose oder modifizierte Carboxymethylcellulose, Hydroxyethyl-Stärke oder Hydroxypropyl-Guar, sowie synthetische wasserlösliche Polymere, wie z. B. Polyvinylalkohol, Polyvinylpyrrolidon, Polyalkylenglycole, Polyasparaginsäure und Polyacrylate.

Als Oberflächenmodifikationsmittel bevorzugt geeignet sind vor allem die nichtionischen Tenside. Als besonders wirksam haben sich die nichtionischen Tenside vom Typ der Alkylglykoside, der ethoxylierten Alkylglykoside sowie der Anlagerungsprodukte von 10 bis 60 Mol Ethylenoxid und/oder 0 bis 5 Mol Propylenoxid an lineare Fettalkohole mit 8 bis 22 Kohlenstoff-Atomen erwiesen.

In der Regel werden die Oberflächenmodifikationsmittel in einer Konzentration von 10 bis 500, vorzugsweise jedoch 50 bis 250 Gew.-%, bezogen auf die Chitosane oder Chitosanderivate, eingesetzt.

Bei der erfindungsgemäßen Ausfällung der sauren Chitosan- oder Chitosanderivat-Lösung durch Anhebung des pH-Werts bildet sich eine Suspension aus, welche als Neutralisationsprodukt ein Salz enthält. Eine Entsalzung des Produkts und eine Aufkonzentrierung kann durch dem Fachmann geläufige Verfahren erfolgen, beispielsweise durch eine Dialyse und/oder eine Zentrifugation, wobei bevorzugt zunächst eine Dialyse und anschließend eine Zentrifugation erfolgt. Vorzugsweise wird die Hauptmenge des Wassers durch Zentrifugation entfernt, wobei mit dem Überstand gleichzeitig der größte Teil der im Verlauf des Verfahrens gebildeten Salze sowie des überschüssigen, nicht für die Belegung der Oberfläche der Nanopartikel benötigten Oberflächenmodifikationsmittels

entfernt wird. Die abschließende Entfernung der Restfeuchte, sofern gewünscht, erfolgt über gängige Trocknungsverfahren, besonders bevorzugt eine Gefriertrocknung.

Auf diese Weise hergestellte Pulver von nanopartikulären Chitosanen oder Chitosanderivaten enthalten typischerweise noch Wassergehalte im Bereich von 1 bis 10 Gew.-%, Salzgehalte im Bereich von 0 bis 3 Gew.-%, sowie Gehalte an Oberflächenmodifikationsmittel im Bereich von 1 bis 5 Gew.-%, jeweils bezogen auf das Gesamtgewicht der Nanopartikel. Je nach Methode zur Abtrennung des überschüssigen Oberflächenmodifikationsmittels können auch Gehalte an Oberflächenmodifikationsmittel von bis zu 30 Gew.-% resultieren. Es ist somit nach der Lehre der Erfindung möglich, Nanopartikel herzustellen, welche zu mehr als 90 Gew.-% aus einem Chitosan oder Chitosan-Derivat bestehen. Erfindungsgemäß lassen sich Chitosane oder Chitosan-Derivate in Form trockener Pulver erhalten, welche gut handhabbar sind und auch bei längerer Lagerung stabil sind, insbesondere nicht zur Agglomeration oder Verklebung neigen. Sie lassen sich in Wasser oder auch anderen Lösungsmitteln unter Einsatz mechanischer Energie zu nanopartikulären Dispersionen redispersieren.

In der WO 9100298 ist ein Verfahren zur kontinuierlichen Herstellung mikrokristallinen Chitosans dargestellt, in welchem laut Beschreibung Chitosan als Dispersion von Partikeln in einem Größenbereich zwischen 0,1 und 50 μm erhalten wird. Aus dieser Dispersion soll durch Trocknung ein pulverförmiges Produkt mit Partikelgrößen zwischen 1 und 100 μm erhalten werden können. Ausführungsbeispiele, welche diese Angaben in der Beschreibung stützen könnten, werden nicht geliefert. In den Ausführungsbeispielen werden als Verfahrensprodukt lediglich Gele mit Chitosangehalten von maximal ca. 10% beschrieben. Die Nacharbeitung dieser WO-Schrift hat ergeben, daß die dort offenbarte Lehre lediglich zu flockigen bis gelartigen Produkten mit Chitosanpartikelgrößen deutlich oberhalb von 1 μm führt, die nach Trocknung verklumpte, agglomerierte Produkte mit weiter erhöhter Chitosanpartikelgröße liefern, welche schwer handhabbar und im Sinne der Aufgabenstellung der vorliegenden Erfindung nicht brauchbar sind.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind nanopartikuläre Chitosane oder Chitosan-Derivate, welche nach den vorstehend beschriebenen erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt sind.

Die nach dem in der vorliegenden Erfindung beschriebenen Verfahren hergestellten nanopartikulären Chitosane oder Chitosanderivate können beispielsweise zur Herstellung von kosmetischen und/oder pharmazeutischen Zubereitungen verwendet werden. Zu solchen Zubereitungen zählen beispielsweise Haarshampoos, Haarlotionen, Haarsprays, Schaumbäder, Cremes, Lotionen oder Salben. Als weitere Rezepturbestandteile können in den kosmetischen und/oder pharmazeutischen

Zubereitungen Adjuvantien enthalten sein, wie sie üblicherweise in solchen Zubereitungen verwendet werden, wie z. B. Konservierungsmittel, Bakterizide, Antioxidantien, Parfüme, Schaumbremsen, Farbstoffe, Pigmente, Verdickungsmittel, anfeuchtende und/oder feuchthaltende Substanzen, Tenside, Emulgatoren, Weichmacher, Fette, Öle, Wachse, Silikone, Sequestrierungsmittel, anionische, kationische, nichtionische oder amphotere Polymere, Alkalisierungs- oder Acidifizierungsmittel, Alkohole, Polyole, Enthärter, Lichtschutzmittel, Elektrolyte oder organische Lösungsmittel. Manche Stoffe, wie z. B. Emulgatoren, können in den Zubereitungen einerseits als Adjuvans, unabhängig davon aber auch als Oberflächenmodifikationsmittel der Nanopartikel enthalten sein.

Die Einsatzmenge der nanopartikulären Chitosane oder Chitosanderivate in den kosmetischen und/oder pharmazeutischen Zubereitungen wird so gewählt, daß die Konzentration der in den Nanopartikeln enthaltenen Chitosane oder Chitosanderivate – d. h. ohne Berücksichtigung der in den Nanopartikeln enthaltenen Oberflächenmodifikationsmittel – zwischen 0,1 und 20, vorzugsweise zwischen 0,5 und 2 Gew.-%, bezogen auf die Zubereitungen, liegt.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind demnach kosmetische und/oder pharmazeutische Zubereitungen, welche nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellte nanopartikuläre Chitosane oder Chitosanderivate in den vorstehend genannten Konzentrationen enthalten.

Die folgenden Beispiele sollen den Erfindungsgegenstand näher erläutern:

Beispiele

Beispiel 1: Herstellung von nanopartikulärem Chitosan (Variante 1):

<u>Lösung I:</u>	<u>Lösung II:</u>
3% Chitosan ¹⁾	1% Dehydol TA 40 (Fettalkohol C ₁₆₋₁₈ + 40 EO)
96% H ₂ O VE ²⁾	NaOH verd. => pH = 12 ³⁾
1% HCl konz.	ad 100% H ₂ O VE

¹⁾ Chitosan DCMF®, Henkel KGaA / Düsseldorf

²⁾ VE = vollentsalzt

³⁾ die Lösung wird mit wäßriger NaOH auf pH = 12 eingestellt

100g der Lösung I werden unter starkem Rühren in 700 g Lösung II eingetropft. Der pH-Wert nach Beendigung des Zutropfens liegt zwischen 9 und 11. Es bildet sich ein flockiger Niederschlag aus. Der Niederschlag setzt sich nach einiger Zeit ab, die überstehende Flüssigkeit wird abdekantiert und der Rest zentrifugiert. Zur Entfernung des Salzes wird das Produkt mittels eines Dialyseschlauches dialysiert. Das anschließende Gefriertrocknen liefert ein flockiges farbloses Chitosan-Pulver, welches in Wasser auf Teilchengrößen zwischen 50 und 200 nm redispersierbar ist. Die Analyse des Chitosan-Pulvers ergibt einen Wassergehalt von 8%, einen NaCl-Gehalt von 2,9% und einen Gehalt an Dehydol von 3%.

Beispiel 2: Herstellung von nanopartikulärem Chitosan (Variante 2):

<u>Lösung I:</u>	<u>Lösung II:</u>
3% Chitosan	1% Dehydol TA 40 (Fettalkohol C ₁₆₋₁₈ + 40 EO)
96% H ₂ O VE	NaOH verd. => pH = 12
1% HCl konz.	ad 100% H ₂ O VE

100g der Lösung I werden unter starkem Rühren in 700 g Lösung II eingetropft. Der pH-Wert nach Beendigung des Zutropfens liegt zwischen 9 und 11. Es bildet sich ein flockiger Niederschlag aus.

Das gefällte System wird mittels Ultrafiltration entsalzt und bis zur Stichfestigkeit (12% Feststoffanteil) aufkonzentriert. Ein Teil des Emulgators Dehydol wird durch die Ultrafiltration ebenfalls entfernt. Durch Gefriertrocknung erhält man ein trockenes Pulver, das einen Tensidgehalt von 24 Gew.-% und einen NaCl-Gehalt kleiner 0,1 Gew.-% aufweist. Dieses Pulver ist in Wasser auf Teilchengrößen zwischen 50 und 200 nm redispergierbar.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von nanopartikulären Chitosanen oder Chitosan-Derivaten mit einem mittleren Teilchendurchmesser im Bereich von 10 bis 1000 nm, bei dem man
 - (a) das Chitosan oder Chitosan-Derivat in einem sauren wässrigen Medium löst
 - (b) den pH-Wert der Lösung in Gegenwart eines Oberflächenmodifikationsmittels soweit anhebt, daß es zur Ausfällung des Chitosans kommt.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Herstellung in Abwesenheit organischer Lösungsmittel erfolgt.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß der mittlere Teilchendurchmesser im Bereich von 50 bis 200 nm liegt.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Chitosan-Derivat ein Ethoxylat, Propoxylat oder ein gemischtes Alkoxylat eines Chitosans ist.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Säure einsetzt, die ausgewählt ist aus der Gruppe, die gebildet wird von Salzsäure, Glykolsäure und Milchsäure.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß man ein Oberflächenmodifikationsmittel einsetzt, das ausgewählt ist aus der Gruppe der nichtionischen Tenside, vorzugsweise aus der Gruppe, die gebildet wird von Alkylglykosiden, ethoxylierten Alkylglykosiden und Fettalkoholethoxylaten.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß man die Oberflächenmodifikationsmittel in Mengen von 50 bis 250 Gew.-%, bezogen auf das Chitosan oder Chitosanderivat, einsetzt.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß nach den Verfahrensschritten (a) und (b) als weiterer Verfahrensschritt eine Dialyse und/oder eine Zentrifugation erfolgt.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß als abschließender Verfahrensschritt eine Trocknung erfolgt.

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Trocknung eine Gefriertrocknung ist.
11. Nanopartikuläre Chitosane oder Chitosan-Derivate, hergestellt nach einem Verfahren der Ansprüche 1 bis 10.
12. Kosmetische und/oder pharmazeutische Zubereitungen, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein nach einem der Ansprüche 1 bis 10 hergestelltes nanopartikuläres Chitosan oder Chitosan-Derivat in einer Konzentration zwischen 0,1 und 20 Gew.-%, bezogen auf die Zubereitung, enthalten.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/10330

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C08J3/14 C08L5/08 A61K7/00 A61K9/16 A61K47/36

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C08J

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE WPI Week 199109 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1991-061423 XP002158839 "Chitosan microparticles prepn. - involves mixing acidic soln. of chitosan with water soluble polyethylene glycol then adding coagulant." & JP 03 009925 A (KANEBO LTD), 17 January 1991 (1991-01-17) abstract</p>	1-3, 5, 7, 9-11
A, P	<p>WO 00 35577 A (HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN) 22 June 2000 (2000-06-22) claims</p>	1-12



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *8* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 January 2001

Date of mailing of the international search report

13/02/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mazet, J-F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. :ional Application No

PCT/EP 00/10330

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A, P	WO 00 47177 A (COGNIS DEUTSCHLAND GMBH) 17 August 2000 (2000-08-17) cited in the application page 3, line 5 - line 20 ----	1
A	DATABASE WPI Week 199744 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1997-475486 XP002158840 "Chitosan nanospheres used for cosmetics and medicines - prepared by emulsifying aqueous solution of chitosan in organic solvents in presence of quaternary ammonium salt type surfactants." & JP 09 221502 A (MITSUBISHI CHEM CORP), 26 August 1997 (1997-08-26) cited in the application abstract ----	
A	DATABASE WPI Week 199715 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1997-161406 XP002158841 "Poultice having high water retention and antibacterial action - consists of support holding water-swelled fine spherical particles of chitosan." & JP 09 030957 A (OJI PAPER CO), 4 February 1997 (1997-02-04) abstract ----	
A	DATABASE WPI Week 199608 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1996-074903 XP002158842 "Chitosan microparticles prodn. - involves dissolving chitosan in aq. sulphuric acid and then cooling." & JP 07 330807 A (DAINICHISEIKA COLOR & CHEM MFG), 19 December 1995 (1995-12-19) abstract -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/10330

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
JP 3009925 A	17-01-1991	NONE	
WO 0035577 A	22-06-2000	NONE	
WO 0047177 A	17-08-2000	AU 2667900 A	29-08-2000
JP 9221502 A	26-08-1997	NONE	
JP 9030957 A	04-02-1997	NONE	
JP 7330807 A	19-12-1995	JP 2905092 B	14-06-1999

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int lationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/10330

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C08J3/14 C08L5/08 A61K7/00 A61K9/16 A61K47/36

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C08J

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>DATABASE WPI Week 199109 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1991-061423 XP002158839 "Chitosan microparticles prepn. - involves mixing acidic soln. of chitosan with water soluble polyethylene glycol then adding coagulant." & JP 03 009925 A (KANEBO LTD), 17. Januar 1991 (1991-01-17) Zusammenfassung</p>	1-3,5,7, 9-11
A,P	<p>WO 00 35577 A (HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN) 22. Juni 2000 (2000-06-22) Ansprüche</p>	1-12

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

30. Januar 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

13/02/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3018

Bevollmächtigter Bediensteter

Mazet, J-F

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. Joneses Aktenzeichen

PCT/EP 00/10330

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A,P	WO 00 47177 A (COGNIS DEUTSCHLAND GMBH) 17. August 2000 (2000-08-17) in der Anmeldung erwähnt Seite 3, Zeile 5 - Zeile 20 ---	1
A	DATABASE WPI Week 199744 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1997-475486 XP002158840 "Chitosan nanospheres used for cosmetics and medicines - prepared by emulsifying aqueous solution of chitosan in organic solvents in presence of quaternary ammonium salt type surfactants." & JP 09 221502 A (MITSUBISHI CHEM CORP), 26. August 1997 (1997-08-26) in der Anmeldung erwähnt Zusammenfassung ---	
A	DATABASE WPI Week 199715 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1997-161406 XP002158841 "Poultice having high water retention and antibacterial action - consists of support holding water-swelled fine spherical particles of chitosan." & JP 09 030957 A (OJI PAPER CO), 4. Februar 1997 (1997-02-04) Zusammenfassung ---	
A	DATABASE WPI Week 199608 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1996-074903 XP002158842 "Chitosan microparticles prodn. - involves dissolving chitosan in aq. sulphuric acid and then cooling." & JP 07 330807 A (DAINICHISEIKA COLOR & CHEM MFG), 19. Dezember 1995 (1995-12-19) Zusammenfassung -----	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/10330

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
JP 3009925 A	17-01-1991	KEINE	
WO 0035577 A	22-06-2000	KEINE	
WO 0047177 A	17-08-2000	AU 2667900 A	29-08-2000
JP 9221502 A	26-08-1997	KEINE	
JP 9030957 A	04-02-1997	KEINE	
JP 7330807 A	19-12-1995	JP 2905092 B	14-06-1999